

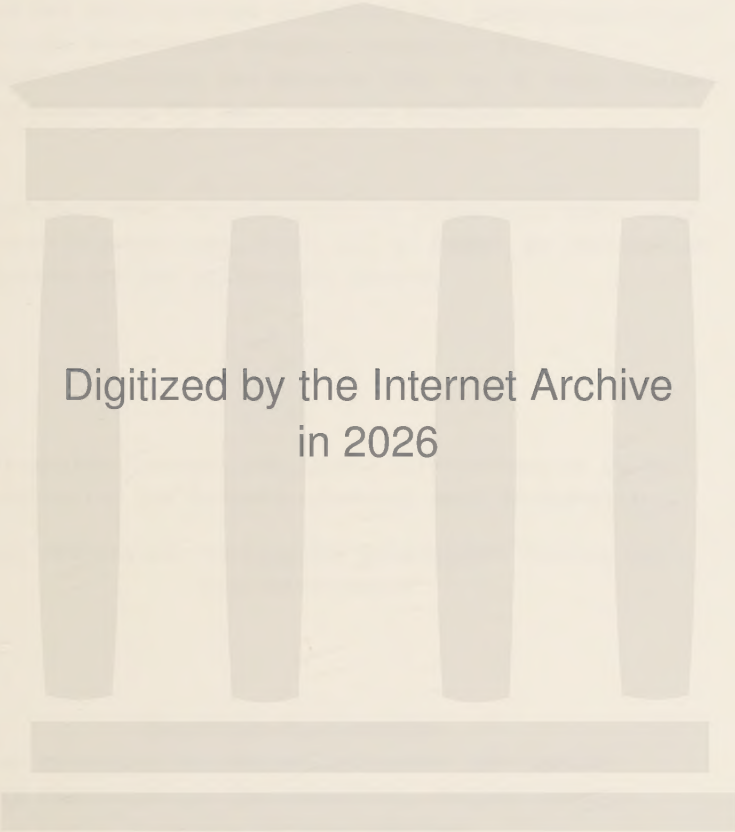
**Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung
an Gefäßendothelien des Miniaturschweines
nach CO-Exposition**

**(Ein Beitrag zur Klärung der atherogenen Wirkung
von Zigarettenrauch)**

Richard Jander

—

1976
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0012

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2 Gabelsbergerstraße 15 Tel 2 8 3 4 0 9 0

Aus der Medizinischen Poliklinik des Fachbereichs Medizin der Universität München (Direktor: Prof. Dr. N. ZÖLLNER) Betreuer der Arbeit: Prof. Dr. H. HESS, Leiter der Abteilung für Angiologische Ambulanz

Vorgelegt über den Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie, Prof. Dr. E. DAHME, am Fachbereich Tiermedizin der Universität München

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung an Gefäßendothelien des Miniaturschweines nach CO-Exposition.

(Ein Beitrag zur Klärung der atherogenen Wirkung von Zigarettenrauch)

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereiches Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Richard Jander
aus
Straßburg
München 1975



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Prof. Dr. E. Dahme
Korreferent:	Prof. Dr. P. Walter

Tag der Promotion: 27. Februar 1976

Herr Prof. Hess möchte ich an dieser Stelle für die
liebenswürdige Überlassung, Herrn Prof. Dahme für die
Übernahme des Themas danken.

Herrn Dr. Marshall für seine stete und aufopferungs-
volle Hilfsbereitschaft und Beratung meinen aufrich-
tigen Dank.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A <u>Einleitung und Fragestellung</u>	1
B <u>Literaturübersicht</u>	5
1. Atherosklerosetheorien	5
2. Die physiologischen Wirkungen von geringfügig erhöhtem CO	11
3. Die pathologischen Auswirkungen von geringfügig erhöhtem CO	15
4. Experimentelle Atherosklerose	19
5. Atherosklerose des Schweins	21
C <u>Eigene Untersuchungen</u>	24
I. Methodik und Material	24
1. Geräte und Methodik	25
2. Tiermaterial	28
3. Narkose und Operationstechnik	28
4. EKG	30
5. Rasterelektronenmikroskop	31
6. Probenentnahme	34
II. Versuchsdurchführung	36

	Seite
1. Vorversuch	36
2. Hauptversuch	37
D <u>Ergebnisse</u>	38
E <u>Diskussion</u>	51
F <u>Zusammenfassung</u>	57
G <u>Literatur</u>	59

A Einleitung und Fragestellung

Tabakrauchen stellt, mittlerweile unbestritten, für den aktiven Raucher eine bedeutende gesundheitliche Schädigung dar. Ob der Tabakrauch auch dem passiven Raucher schadet, ist umstritten.

Schon Goethe hat die Problematik des Mitrauchens als solche erkannt:

"Die Raucher verpesten die Luft weit und breit und erstickten jeden honetten Menschen, der nicht zu seiner Verteidigung auch zu rauchen vermag. Wer ist imstande, in das Zimmer eines Rauchers zu treten, ohne Übelkeit zu empfinden?"

Unter den Risikofaktoren für den Herzinfarkt steht Rauchen neben Hypercholesterinämie und Hochdruck mit an erster Stelle. 87 % aller Herzinfarktereignisse betreffen Raucher (48).

In Verbindung mit anderen Risikofaktoren ist die Gefahr, ischämische Erkrankungen zu erleiden, erheblich stärker. Das klinische Bild schwerer atherosklerotischer Läsionen wird bei Rauchern sehr viel häufiger als bei Nichtrauchern beobachtet (47).

Die Wahrscheinlichkeit, eine arterielle Verschlusskrankheit zu erleiden, ist bei Rauchern die über 20 Zigaretten

pro Tag konsumieren, 20 - 30 mal größer als bei Nicht-
rauchern (70, 49).

Bisherige Untersuchungen gingen meist davon aus, daß Nikotin (10) und verschiedenartige Teerbestandteile diese Veränderungen am kardio-vaskulären System verursachen. Doch kann die bei Rauchern zu beobachtende Sauerstoffschuld bei körperlicher Betätigung (12) kaum diesem Faktor zugerechnet werden. Es ist verwunderlich, daß das Kohlenmonoxyd trotz seines durchschnittlichen Anteiles von 4,2 % des Zigarettentrauchs (71, 47) bisher so wenig Beachtung bei der Erklärung vieler kardio-vaskulärer Erkrankungen gefunden hat.

Nach Schievelbein (1975) gibt es keine Hinweise für eine chronische Wirkung von CO beim Passivraucher. Eine kausale Beteiligung von CO bei der Ausbildung einer Atherosklerose wird abgelehnt (80). Möglicherweise hatte diese Einstellung ihre Begründung in der Beobachtung von Haldane, daß ein physiologischer Effekt von CO erst bei einer Sättigung von 20 - 30 % Carboxhämoglobin zu beobachten sei (36), aber der CO-Hb-Gehalt im Raucherblut unmittelbar nach dem Rauchen nur 4 - 10 % beträgt (82, 43).

Erst Untersuchungen aus neuerer Zeit beschäftigen sich mit dem CO als möglichem Auslösefaktor für die Entstehung der Atherosklerose. Die Aussage, ob die durch CO induzier-

te Hypoxidose der Gefäßintima ein atherosklerotischer Prozeß gefördert wird, ist sehr umstritten (91). Epidemiologische Untersuchungen an CO-exponierten Arbeitern haben zu gegensätzlichen Ergebnissen bei verschiedenen Autoren geführt, wobei die statistische Auswertung jeweils offensichtlich subjektiv gefärbt ist (24, 68). Bislang nicht widerlegt ist jedoch die signifikante Zunahme der Atheromatose der Aorta bei Kaninchen nach einer Langzeitexposition gegenüber relativ niederen CO-Konzentrationen (7).

Ähnliche Ergebnisse könnte man auch für den Menschen erwarten, wenn man bedenkt, daß in stark verräucherten Räumen CO-Werte von 80 ppm, in Gastwirtschaften und kleinen Räumen wie Kraftfahrzeugen bis zu 150 ppm gemessen wurden (67).

Die Anstrengung der Zigarettenindustrie, die Giftigkeit der Zigaretten in Bezug auf Nikotin und Teer herabzusetzen, ist lobenswert, sieht aber über den hohen Anteil und die Gefährlichkeit des CO hinweg. Dieser Anteil ist durch die üblichen Filter überhaupt nicht zu beeinflussen und würde auch bei völlig tabakfreien Zigaretten entstehen (75). Die Bestrebungen der Zigarettenindustrie gehen neuerdings auch dahin, den CO-Bestandteil der Zigaretten zu senken.

Eine der derzeitigen Forderungen lautet deshalb, auch den CO-Gehalt auf Zigarettenspackungen zu deklarieren (75).

Nach der neueren Literatur erscheint es gerechtfertigt zu folgern, daß CO ein Faktor von großer Bedeutung für die Giftigkeit des Tabakrauches ist, vielleicht der bedeutendste (5, 2).

Ziel dieser Arbeit war es, an Hand eines für die Atheroskleroseforschung geeigneten Versuchstieres pathologische Veränderungen am Gefäßsystem, die durch das Einatmen mäßiger CO-Konzentrationen entstehen, mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops darzulegen.

B Literaturübersicht

1. Atherosklerosetheorien

Das Basisgeschehen der Atherosklerose ist gekennzeichnet durch eine Läsion, welche sich in der Intima und der Media von großen und mittleren Arterien, meist an mehreren Orten verstreut entwickelt und die Atherome und eine Fibrosklerose zur Folge hat (13). Wie es aber initial zu diesem Prozeß kommt, ist unklar; es werden einige unterschiedliche Theorien diskutiert:

Eine Forschergruppe faßt die Atherosklerose als Funktionsstörung der glatten Muskelzellen auf, bei der es zu einer Proliferation der glatten Muskelzellen aufgrund von Permeabilitätsstörungen kommt. Dabei lagern sich in die wenigen glatten Muskelzellen zwischen Intima und Elastica intima, sowie extrazellulär Fette in charakteristischer Art und Weise ein.

An der Intima sind diese Veränderungen zuerst in Form von gelblichen, flachen Arealen sichtbar. Im weiteren Verlauf kommt es zu weißlichen, erhabenen, herdförmigen Anhäufungen dieser fettbeladenen Zellen ("Schaumzellen"), die von kollagenen und elastischen Fasern umgeben sind. Zu den Gefäßkomplikationen kommt es dann, wenn durch Blutungen, Zellnekrosen und Verkalkungen atheromatöse

Plaques entstehen (81, 74).

Eine neuere Theorie dreht sich um die Lipoprotein-Lipase, die die Serum-Triglyzeride zu freien Fettsäuren aufspaltet. Die Lipoprotein-Lipase findet sich in den Endothelzellen der größeren Arterien. Bei einer Läsion löst die Plättchen-Aggregation durch die "release-reaktion" eine vermehrte Freisetzung dieses Enzyms aus. Wenn sich nun an einer Gefäßwandläsion Thrombozyten und Chylomikronen ansammeln, kommt es durch die freigesetzte Lipoprotein-Lipase aus den lädierten Endothelzellen zu einer lokalen Vermehrung von freien Fettsäuren aus den Triglyzeriden der Chylomikronen. Die Fettsäuren dringen zusammen mit Cholesterin in das umliegende Intimagewebe ein. An der veränderten Gefäßwand können neue Plättchenaggregationen entstehen, die den Prozeß fortführen (1).

Ein neuer Gesichtspunkt stellt die Immunogenese der Atherosklerose dar. Für das Vorliegen einer immunologisch zumindest mitbedingten Atherosklerose gilt als Hinweis, daß sich in Einzelfällen eine Autoimmunhyperlipidämie findet, die zu entsprechenden atherosklerotischen Wandveränderungen führt, und weiterhin, daß durch Immunisierung sich Atheropathien induzieren lassen.

Kennzeichen für das Vorliegen von Autoimmunhyperlipoproteinämie sind das Vorhandensein von Hyperlipidämien

im Rahmen von Paraproteinämien, das Vorkommen von anderen Autoimmunerkrankungen, der Nachweis von Lipoproteinkryopräzipitaten sowie Präzipitation von Serumverdünnung und eine atypische Immunelektrophorese. Charakterisiert sind diese Antikörperlipoproteinkomplexe dadurch, daß sie in das Agarosegel der Lipoproteinelektrophorese gewöhnlich nicht eintreten. Beweisend ist das Vorhandensein zirkulierender Antikörper, zu deren Isolierung jedoch sehr häufig Reinigungsprozeduren notwendig sind. Es handelt sich bei diesen Antilipoproteinämien um lipidreiche Immunkomplexe, die nicht mit Komplement reagieren und nicht zytotoxisch wirken. Charakteristisch für die immunologisch bedingte Atherosklerose ist, daß die frühen Läsionen wenig oder überhaupt keine Lipide enthalten und daß dieser Vorgang wesentlich destruktiver als gewöhnlich abläuft (13).

Dieser Arbeit zugrunde liegt die Theorie der frühzeitigen Adhäsion der Thrombozyten an der Gefäßwand für die Entstehung der Atherosklerose. Risikofaktoren bewirken eine vermehrte Adhäsions- und Aggregationsbereitschaft der Plättchen, die auf dem Endothel adhären und zu Mikroparietalthromben führen können und so den atherosklerotischen Prozeß einleiten (29). Blutgefäß und strömendes Blut sind eine Funktionseinheit. Sie sind eine Einheit nicht nur im Hinblick auf ihren Zweck als Trans-

portorgan für die Bedürfnisse des Stoffwechsels der Gewebe, sondern eigenexistentiell. Nativblut bleibt nur flüssig, solange es in einem intakten Blutgefäß liegt. Und ein Blutgefäß bleibt nur intakt, solange Blut darin strömt. Es ist eine Leistung der Gefäßwand, daß das zirkulierende Blut ständig flüssig bleibt, wie es eine Aufgabe des Blutes ist, die Gefäßwand intakt zu halten (73). Physiologischerweise ist diese Gefäßwand-Bluthomoiostase gegeben. Pathologischerweise kann sie nach zwei Richtungen hin gestört sein. Blutungen in den interzellulären Raum treten auf, wenn das Blut seine Aufgabe als Protektor der Integrität der Gefäßwand nicht mehr ausreichend zu leisten vermag, weil entweder das Gerinnungssystem nicht intakt ist oder die Blutplättchen in ihrer Zahl kritisch vermindert bzw. in ihrer Funktionsfähigkeit gestört sind.

Die Hyperkoagulabilität ist die dem entgegengesetzte Störung der Gefäßwand-Bluthomoiostase. Sie wird vor allem durch die pathologisch erhöhte Zahl der Thrombozyten bzw. durch Steigerung deren Aggregations- und Adhäsionsbereitschaft verursacht.

Der normale Thrombozyt ist im strömenden Blut ein ellipsoides Körperchen mit einem Durchmesser von 1 - 2 μ m. In dieser Form, die man Ruheform nennen kann, hat er keine Tendenz mit anderen Thrombozyten bzw. mit anderen Blut-

körperchen zu aggregieren oder auf intaktem Gefäßendothel zu haften (40).

Sobald Thrombozyten aus ihrer Ruheform durch pathologische oder physiologische Noxen in ihrer "Reizform", in der sie Kugelform annehmen und Pseudopodien ausbilden, gebracht werden, bilden sie im strömenden Blut Aggregate oder sie heften sich an der Gefäßwand an. Beispielsweise läßt sich durch die intravenöse Injektion von Noradrenalin oder durch einen Eisreiz am freigelegten Gefäß, eine experimentelle "Kälteangiitis", ein solches Verhalten auslösen (41). Bei den häufig vorkommenden Mikroläsionen des Endothels werden derartige Reizformen der Thrombozyten provoziert, um die Läsion durch Thrombozyten abzudecken. Es handelt sich dabei um eine Art von physiologischem Reparaturmechanismus. Damit wird die Gefäßwand-Bluthomöostase wiederhergestellt.

Ein weiteres physiologisches Phänomen könnte ebenfalls eine Rolle bei diesem Mechanismus spielen: normalerweise hat die Intima gegenüber der Adventitia eine negative elektrische Ladung von 5 - 20 mV. Bei einer Schädigung der Gefäßwand findet in den meisten Fällen eine Umkehrung des Potentials statt. Da die Thrombozyten negativ geladen sind, könnte die positiv geladene, geschädigte Gefäßwand die negativen Thrombozyten anziehen (22).

Nach experimentell provozierter Reizung der Thrombozyten haften sie aber auch an intaktem Endothel. Dies konnte an Schweinen und Kaninchen gezeigt werden, die nach kurzer Zigarettenrauchexposition oder mehrtägiger Cholesterinfütterung bereits "aktive", adhärente Thrombozyten aufwiesen (41). Meist werden derartige Thrombozytenadhäsionen bald in die Gefäßwand integriert, anscheinend ohne Spuren zu hinterlassen. Erst bei anhaltender Reizwirkung entwickeln sich Mikroparietalthromben, die sekundär von Endothel überzogen und organisiert werden und sich in atherosklerotische Herde verwandeln können (29). Bei gleichzeitig erhöhtem Cholesterinspiegel verstärkt sich die Entwicklung atheromatöser Plaques beträchtlich (7).

2. Die physiologischen Auswirkungen von geringfügig erhöhtem Kohlenmonoxyd

Schätzungen gehen davon aus, daß Kohlenmonoxyd (CO) aus technischen und natürlichen Quellen auf der Welt in einer Menge von mindestens 250 Millionen Tonnen pro Jahr erzeugt wird. Die Verbrennung von Kraftstoff in Autos stellt die Hauptquelle dar. Das entstehende Gas entweicht in die Luft, und da die Bodenkonzentrationen nicht erhöht sind, nimmt man an, daß die Oxydation zu Kohlendioxyd in der höheren Atmosphäre stattfindet.

Nur ein äußerst geringer Anteil dieser riesigen Produktion wird von Mensch oder Tier aufgenommen. Läßt man die relativ seltenen Fälle einer echten CO-Vergiftung beiseite, ist die häufigste Quelle eines erhöhten Carboxyhämoglobinspiegels der eingeatmete Tabakrauch. Die Luftverschmutzung mit CO in den Großstädten führt nur zu geringfügig erhöhtem CO-Hb-Spiegel bei Nichtrauchern (31).

Zigarettenrauch enthält 3 - 6 % CO, das sind ungefähr 20 - 30 ml CO pro Zigarette, abhängig von der Verbrennungstemperatur. So hat z.B. der Rauch von Pfeifen und Zigaretten, die bei niedrigeren Temperaturen als Zigaretten verbrennen, 2 - 3 mal höhere CO-Konzentrationen (11, 68).

Die CO-Aufnahme findet bei Rauchern vor allem in der Lun-

ge statt, abhängig vom Grad der Inhalation. Starke Raucher zeigen die höchsten CO-Hb-Spiegel. Den höchsten Stand überhaupt, 15 - 20 % CO-Hb, zeigten inhalierende Zigarrenraucher. Die Elimination von CO aus dem Körper geschieht im Ruhezustand mit einer Geschwindigkeit von ungefähr 15 % in einer Stunde, zum größten Teil durch Abatmung des unveränderten Gases. Die Eliminationsgeschwindigkeit hängt vom CO-Druckgradienten zwischen Blut und Alveolarluft und der Atmungsfrequenz ab.

Ein noch nicht sicher nachgewiesener Teil des CO wird im Körper zu CO_2 aufoxydiert und in dieser Form abgeatmet. Der toxische Effekt des CO auf den Organismus war dem Menschen wahrscheinlich schon seit sehr langer Zeit bekannt. Wir wissen, daß es bereits in der Antike als gefährliches Gift erkannt wurde.

Claude Bernard studierte als erster wissenschaftlich seine Wirkungsweise. Er zeigte, daß mit CO behandeltes Blut nicht in der Lage war, Sauerstoff zu binden. Aber erst Haldane wird mit seiner ersten Veröffentlichung 1895 als der wahre Erforscher der Physiologie und Toxikologie von CO betrachtet. Zusammen mit einigen seiner Mitarbeiter führte er nunmehr die klassischen Versuche der CO-Wirkung auf den Menschen aus (4). Haldane glaubte, daß der einzige toxische Effekt des CO darin besteht, die Sauerstofftransportkapazität zu mindern. Solange diese nicht ernstlich eingeschränkt ist, könne man CO als

harmlos betrachten (36). Erst 1929 konnte Campbell zeigen, daß aufgrund der von Haldane entdeckten Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve die Sauerstoffspannung zwischen Gewebe und venösem Blut nach mittleren Expositionen von CO stark verändert war (36).

Erstaunlich war die Entdeckung, daß durch den Stoffwechsel von Hämoglobin und anderen Häm pigmenten permanent CO im Organismus gebildet wird. Dies erklärt den beständigen CO-Spiegel von 0,5 % im menschlichen Blut (84, 23).

Kohlenmonoxyd hat eine ungefähr 210 mal größere Affinität zu Hämoglobin als Sauerstoff. Die Angaben in der Literatur schwanken zwischen 210 und 300. Damit lassen sich die relativ hohen Co-Hb-Konzentrationen bei niedrigem CO-Spiegel der Umgebungsluft erklären (34).

Ein CO-Hb-Spiegel von 5 - 6 % führt zu einer verminderten O₂-Transportkapazität, die der in 2000 - 3000 m Höhe aufgrund des O₂-Mangels entspricht (52).

10 - 15 % des gesamten Körper-CO findet man extravaskulär, an Myoglobin und verschiedene andere Häm-enhaltende Proteine gebunden. Die Affinität dieser Proteine zu CO ist im allgemeinen höher, als die von Hämoglobin zu CO. Dies bezieht sich besonders auf das Cytochrom P 450 und das Myoglobin (30). Es konnte gezeigt werden, daß die Carboxymyoglobin-Konzentrationen ungefähr 2 - 3 mal

höher sind, als die entsprechenden CO-Hb-Konzentrationen. Es können also noch Einflüsse auf den intermediären Stoffwechsel auf dieser Ebene angenommen werden (6).

In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, daß in einem Gewebe mit niedriger Sauerstoffspannung, wie dem Myokard, eine relativ höhere Bindung von CO besteht, abhängig von der Beziehung von $p\text{CO}$ und $p\text{O}_2$ in den verschiedenen Geweben.

3. Die Pathologischen Auswirkungen geringer CO-Konzentrationen

Mit den pathologischen Auswirkungen des CO haben sich 1970 und 1972 zwei Konferenzen beschäftigt (18, 51), eine weitere ist in Vorbereitung (90).

Da CO eine etwa 210 mal höhere Bindungsfähigkeit an Hb im Vergleich zum Sauerstoff hat, erklären sich die "giftigen" Wirkungen des CO in erster Linie aus einer Hypoxie. Ein Sauerstoffmangel betrifft das Gehirn bei 20 % des Gesamtsauerstoffbedarfs des menschlichen Körpers natürlich in besonderem Ausmaß (51, 90, 59, 16, 14).

Es wird von hypoxischen Schädigungen der Ganglienzellen des Striatopallidums berichtet, bei denen es zu einer Ganglienzelldegeneration und zu Nekrosen der Globi pallidi gekommen war (76, 53). In schweren Fällen äußerten sich diese Schäden in Form des Parkinson-Syndroms, bei leichteren Intoxikationen traten Störungen der Psychomotorik, im allgemeinen in Form einer Hyperaktivität auf (53). Auch einfache psychologische Tests erbrachten bereits bei niedrigen CO-Hb Werten signifikante Zusammenhänge (83).

Die Verwertung des verfügbaren Sauerstoffs ist im Myokard im Ruhezustand sehr hoch, deshalb scheint das Myokard

schon sehr geringen Co-Konzentrationen gegenüber sehr empfindlich zu sein. An Kaninchen, die über 2 Wochen hinweg einen CO-Hb Spiegel von 16 bis 18 % aufwiesen, wurden schwerwiegende Alterationen der Feinstruktur des Myokard gefunden. Die auffälligsten Beobachtungen waren Herde einer partiellen oder vollständigen Nekrose der Myofibrillen und degenerative Veränderungen der Mitochondrien (6).

Auch die direkten Wirkungen des CO in Konzentrationen, denen auch Raucher täglich ausgesetzt sind, auf den Kreislauf sind erheblich. So wurde bei Hunden gezeigt, daß der koronare Blutfluß durch eine kompensatorische Dilatation der Gefäße deutlich zunahm. Bei einer Hypoxämie ist eine ähnliche Zunahme zu beobachten. Die Sauerstoffspannung im Koronarsinus bei CO-Exposition war jedoch beträchtlich vermindert. Der kardiale O_2 -Verbrauch ebenso (11).

Bei ähnlichen Versuchen am Menschen bei einem CO-Hb Spiegel von nur 5 - 9 % entwickelten sich bei einigen Personen Arrhythmien, bei anderen waren nicht unerhebliche EKG-Veränderungen festzustellen. Bei Vorliegen einer Koronarsklerose mit starren Kranzgefäßen verliert die koronare Strombahn ihre Adaptionsfähigkeit. Eine CO-Exposition geringeren Ausmaßes, den Gesunden nicht tangierend, kann unter diesen Umständen zum Myokardinfarkt

führen (77). Entwicklungsschädigungen wurden bei neugeborenen Kaninchen gefunden, die 10 bis 18 % CO-Hb während der gesamten Intrauterinperiode aufwiesen. Die hauptsächlichsten Beobachtungen waren eine Verminderung des durchschnittlichen Geburtsgewichts und eine stark erhöhte Neugeborenenmortalität (9). Auch bei Frauen, die während der Schwangerschaft rauchen, wird ein deutlich verringertes Geburtsgewicht der Neugeborenen registriert.

An isolierten Thrombozyten konnten nach Einwirkung von CO bedeutende Veränderungen festgestellt werden: Thrombozyten von Ratten wurden einer CO-Begasung unterzogen und im Elektronenmikroskop untersucht. Nach Einwirkungszeiten von 1 - 2 Stunden konnten Membranläsionen beobachtet werden. Ferner zeigten weniger dicht gelagerte Thrombozyten Pseudopodienbildung. Die innere Feinstruktur wies variable Veränderungen auf (28).

Die entzündlichen Gefäßwandveränderungen, wie sie in frühen Stadien bei der Buergerschen Krankheit, einer Sonderform der obliterierenden Angiopathie histologisch zu erkennen sind, werden häufig neben anderen, auf starkes Rauchen zurückgeführt (63). An Schweinen und Kaninchen konnte nachgewiesen werden, daß ADP-bedingte intravasale Thrombozytenaggregate zu entzündlichen Gefäßveränderungen führen (44), was auf Thrombozytenfaktoren, die bei

der "release reaction" freigesetzt werden, zurückgeführt wird (62).

4. Experimentelle Atherosklerose durch CO

Es ist besonders die Arbeitsgruppe um Astrup, die die Zusammenhänge zwischen CO und Atherosklerose seit mehreren Jahren experimentell nachzuweisen sucht (5, 23, 6, 23, 30, 87, 7).

Gerade die Beobachtung, daß bei Rauchern mit obliterierenden Gefäßkrankheiten CO-Hb Spiegel von 10 - 20 % gefunden werden, führte zu der Vermutung, daß das CO im Tabakrauch das Risiko, an Atherosklerose zu erkranken, wesentlich erhöht im Vergleich zum Nichtraucher.

Ein erstes Experiment zeigte die Auswirkung von CO auf cholesteringefütterte Kaninchen. In luftdichten Kammern wurden die Versuchstiere über 7 Wochen hinweg mit 170 ppm CO begast, was CO-Hb-Konzentrationen von ungefähr 16 % ergab. Dies führte zu einem 2,5 mal höheren Cholesteringehalt der Aorta als bei Kontrolltieren (8).

Diese Beziehungen wurden dann auch bei anderen Untersuchern an verschiedenen Tierarten, auch bei Primaten, bestätigt (88, 19). Auch bei Kaninchen, die nicht mit Cholesterin gefüttert wurden, konnten durch niedrige CO-Konzentrationen arterielle Läsionen mit auffälligen, herdförmigen, subendothelialen Ödemen gefunden werden, die sich histologisch kaum von einer spontan entstehenden Atherosklerose unterscheiden lassen (87).

Auch Fledermäuse wurden in ähnlichen Experimenten CO-Luft-Gemischen ausgesetzt. Die dabei beobachteten Resultate an den Gefäßwänden entsprachen denen nach Zigarettenrauchen. Als Folgerung kann man eine hemmende Funktion des CO im Zigarettenrauch auf die Sauerstoffversorgung der Gefäßwand durch die Bildung von Carboxyhämoglobin, möglicherweise auch durch eine lokale enzymatische Hemmung vermuten (65).

5. Atherosklerose beim Schwein

Seit Gottlieb und Lalich (35) über das Vorkommen von atheromatösen Plaques in der Aorta bei 35 % von über 3 Jahre alten Schlachtschweinen berichteten, wurden an dieser Tiergattung in zunehmenden Maße verschiedene Studien über die Atherogenese und den Fettstoffwechsel gemacht.

Da die Körpergröße, der Raum- und Pflegeanspruch und die hohen Futterkosten die Verwendung des Hausschweines für Versuchszwecke erheblich einschränken, boten sich mit der Herauszüchtung des "Hormel"-Miniaturschweins vor ca. 20 Jahren neue Aspekte (29). Im Laufe der folgenden Jahre wurden an vielen anderen Instituten neue Miniaturschweinformen gezüchtet, bis 1958 in den Hanford-Laboratorien das von uns verwendete gleichnamige Schwein entstand (46). Durch die relativ geringen Anschaffungs- und Haltungskosten ist die Kosten-Nutzen-Relation wesentlich günstiger im Vergleich zu anderen gleichwertigen Versuchstieren, z.B. Primaten oder Hausschweinen (57).

Das "Hanford"-Miniaturschwein stimmt mit seinen biologischen Daten mit denen des Menschen gut überein. Gerade die Ähnlichkeit mit dem Herz- und Kreislaufsystem und den Fettstoffwechsel der Menschen ist im Zusammenhang mit dieser Arbeit besonders erwähnenswert (57, 58, 46). Als Modelltier für die Erforschung der Atherosklerose, die

beim Schwein am ehesten dem Menschen vergleichbare Veränderungen hervorruft, ist das Miniaturschwein im Begriffe, sich einen hervorragenden Platz zu erobern (25, 26, 60, 32, 35, 17, 54, 31).

Auf dem Kolloquium über das Miniaturschwein im Jahre 1967 in München wurde von Dahme aufgrund der Untersuchungen am Spontanbild über die Pathogenese der Atherosklerose beim Schwein folgendes ausgeführt:

"In weitgehender Übereinstimmung lassen die Untersuchungsergebnisse erkennen, daß der spontanen Atherosklerose des Schweines die gleichen Strukturveränderungen in der Arterienwand zugrunde liegen wie der des Menschen, d.h. eine vielfältige Kombination proliferativer und degenerativer Vorgänge mit der Tendenz zur Atherombildung in der sklerotischen Intima. In ihrem Verteilungsmuster auf die verschiedenen arteriellen Strombahngebiete treten in Abhängigkeit vom Alter der Tiere bestimmte Provinzen deutlich in den Vordergrund: Im Aortenverlauf zeigt sich eine Besonderheit insofern, als der abdominale Abschnitt von Anfang an weit stärker in das Geschehen einbezogen ist als der thorakale. Auch in der Qualität der Veränderungen sind Intimasklerosen durch meist erhebliche Lipidosen charakterisiert und teils flächenhaft, teils in der Umgebung der abzuzweigenden Arterienäste angeordnet

sind. Demgegenüber tritt im thorakalen Teil dieser Verteilungstypus zurück, und kleinherdige, teils sogar knopf-förmige Sklerosen können dominieren. Insgesamt gesehen nimmt aber im fortgeschrittenen (d.h. etwa vom 7. - 14. Lebensjahr) Lebensalter der Lipidreichtum der sklerotischen Plaques zu und wird nicht selten durch dystrophische Verkalkungsprozesse in Intima und Media der Arterienwände ergänzt. Zu den Verzweigungsgebieten mit besonders deutlicher Ausprägung präatherosklerotischer und atherosklerotischer Prozesse im Sinne der humanen Atherosklerose sind die Herzkranzarterien, die cerebralen Arterien und die die Milchdrüse versorgende A. thoracica interna zu zählen. Hier lassen sich aus der Topik der Prozesse die besonderen strömungsmechanischen Voraussetzungen ablesen und damit Kriterien für die Pathoklise schlechthin erkennen. Bemerkenswert ist bei alledem aber die Erfahrung, daß die typischen atherosklerotischen Spätkomplikationen, wie Ulceration und Thrombosierung, bislang selbst bei Schweinen im Alter von 10 - 14 Jahren nicht beobachtet werden konnten. Dagegen ließen sich aber als Folgen einer Insuffizienz atherosklerotisch veränderter Hirn- und Kranzarterien verschiedentlich ischämische Nekrosen und Infarkte in den entsprechenden Organen nachweisen" (25).

C Eigene Untersuchungen

I. Methodik und Material

1. Geräte und Methodik:

Versuchskammer: Als Versuchsbehälter wurde ein gasdichter Holzkasten von ca. $0,3 \text{ m}^3$ Rauminhalt ($52 \times 55 \times 1,05 \text{ cm}$) verwendet. Die Hälfte der Seitenflächen und die Deckplatte waren in durchsichtigem Plexiglas ausgeführt. Diese Konstruktion erlaubte eine gute Beobachtung der Versuchstiere. An beiden Schmalseiten befanden sich verschließbare Löcher zur Zu- und Ableitung der Gase und Einführung der Meßsonden in einer Höhe von 25 cm.

CO-Luft-Gemisch: Es handelte sich um ein Gemisch von CO in synthetischer Luft (150 bzw. 200 ppm CO), das in 40 l Stahlflaschen geliefert wurde (5400 Liter geprüftes Gemisch) (Hersteller: Fa. Linde AG, München).

Der Gasstrom/Zeit wurde mittels eines Durchflußmeßgerätes in der gewünschten Größe eingestellt. (Dräger Werke, Lübeck)

Meßgeräte: Die Messungen erfolgten mit dem Dräger Gas-spürgerät (Multigasdektor Mod 21/31). Dabei wurde die zu untersuchende Luft durch ein CO_2 - oder CO-Prüfröhrchen (Dräger Röhrchen CH 251 bzw. Ch 256) mit der Gasspürpumpe angesaugt und der entsprechende Wert an der Farbverän-

derung an der Skala des Prüfröhrchens abgelesen.

Messprinzip: Aus einer bekannten Menge CO-haltigem (ungerinnbar gemachten) Blutes wurde das CO mit Kaliumhexacyanoferrat (III) freigesetzt. Das freigesetzte CO wurde mit 1 Liter CO-freier Luft gemischt. Der CO-Gehalt dieses Gemisches wurde mit den Dräger-Röhrchen CO 5/c gemessen und auf den Hämoglobin-Gehalt des untersuchten Blutes bezogen.

Die CO-Anzeige beruht auf der Farbreaktion mit Jodpentoxyd, Selendioxyd und rauchender Schwefelsäure.

Die CO₂-Anzeige beruht auf der Reaktion mit einer Hydrazinverbindung (29). Die CO-Hb-Messungen erfolgten mit dem Gerät zur CO-Hb Bestimmung (Herst.: Dräger Werke) CH 238 (nach Sachs).

Viskosität: Zur Messung diente ein Brookfield-Wells-Mikroviskosimeter (cone-plate-viscometer), mod. nach Schmidt-Schönbein, dessen Umdrehungsgeschwindigkeit auf 60 Umdrehungen pro Minute eingestellt worden war. Diese Geschwindigkeit schafft Verhältnisse, die weitgehend denen in der Kreislaufperipherie entsprechen. Das Heizsystem wurde auf die konstante Temperatur von 37° C eingestellt (89).

Plättchenagglutinationstest (PAT) nach Bredin (20):

In einer Plastikspritze wurden 2 ml Na-Citrat 3, 8 % vorgelegt und mit einer Einmalkanüle Nr. 1 auf 20 ml Blut aufgezogen. Durch Spontansedimentation (ca. 3/4 Stunden) oder durch 5-minütiges Zentrifugieren bei 1000 Umdrehungen pro Minute wurde plättchenreiches Plasma gewonnen. Die Aufbewahrung von Blut und plättchenreichem Plasma darf nur in Polystyrol-Plastik-Einmalbehältern erfolgen. 1,5 ml des plättchenreichen Plasmas wurden in ein silikonisiertes 20 ml Messkölbchen gegeben und 10 Minuten bei 20 Umdrehungen pro Minute im Wasserbad von 37° C rotiert. Der Inhalt des Kölbchens wurde dann in ein Plastikröhrchen, in dem 4 ml NaCl-Citrat vorgelegt waren, gekippt. Um ein Vergleichspräparat zu erhalten, wurden von dem restlichen nicht rotierten plättchenreichen Plasma 0,5 - 0,6 ml ebenfalls in ein Plastikröhrchen mit 4 ml NaCl-Citrat einpipettiert. Je ein silikonisierter Objektträger wurde dann 30 Minuten lang mit nicht rotiertem bzw. rotiertem Präparat überschichtet, anschließend mehrmals kräftig in NaCl-Citrat gespült, dann 5 Minuten in 40 % Formalin fixiert und schließlich vorsichtig in Aqua dest. abgespült.

Zur Oxydation und Färbung wurden die Präparate spätestens 2 Tage danach erst 5 Minuten in 1/10 n KMnO_4 -Lösung (zur besseren Farbaufnahme) und dann 1 Stunde in Giemsa-

Lösung (20 ml Giemsa-Stammlösung und 80 ml Aqua dest.) gelegt und anschließend unter fließendem Leitungswasser abgespült. Nach dem Trocknen konnten die Präparate dann unter dem Lichtmikroskop ausgewertet werden. Nach dem Grad der Aggregation und der Metamorphose der Thrombozyten wurden 5 Stufen unterschieden, die mit I bis V bezeichnet wurden.

2. Tiermaterial

Als Versuchstiere benützten wir Hanford-Miniaturschweine. Die Tiere waren durchschnittlich 42,5 kg (20 - 67 kg) schwer und entsprechend 3 - 7 Monate alt. Von den verwendeten 10 Tieren waren 5 männlich (kastriert). Zwei der Tiere verendeten vor oder während der Narkose.

Die Haltung erfolgte einzeln und ohne Auslauf. Alle Versuchstiere wurden gezüchtet im Institut für Tierhygiene der Universität München (Vorst. Prof. Kalich).

3. Narkose

Die Narkose wurde bei allen Tieren mit der Kombination des Hypnotikum und Muskelrelaxans Metomidat (Hypnodil^R)

und dem Sedativum Azaperon aus der Butyrophenonreihe (Stresnil^R) durchgeführt. Die Dosierung von Stresnil lag bei 2 - 4 mg/Kg KG i.m., von Hypnodil bei 10 - 15 mg/kg KG i.p., oder 3 - 5 mg/kg KG i.v. (56, 57)

Operationstechnik:

Die Operationen erfolgten unter streng aseptischen Bedingungen, mit in der humanmedizinischen Chirurgie gebräuchlichem Instrumentarium. Zur streßfreien Injektion bzw. Infusion am nicht narkotisierten Tier wurden vor jedem Versuch ein Katheder aus Silikon-Kautschuk mit 3,5 mm Außendurchmesser über eine Halsvene bis in die V. cava cranialis geschoben.

Die Katheter wurden subkutan zum Rücken verlegt (55).

Für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden jeweils vor den Begasungsversuchen ein Stückchen der A. carotis der rechten oder linken Seite entnommen. Eine Beeinträchtigung der Tiere durch diesen Eingriff war nicht zu erkennen (55).

Der postoperative Verlauf war in allen Fällen komplikationslos, in der Regel wurden noch 6 - 8 ml Tardomyocel comp.^R ad us vet i.m. gespritzt. Meist konnte nach 2 - 3 Tagen mit den Versuchen begonnen werden.

Unmittelbar nach Beendigung der Beatmungsversuche wurden die Schweine in Narkose gelegt und erneut operiert. Es wurde die andere A. carotis, die beiden Femoralarterien und das Herz (A. interventricularis) entfernt und für die elektronenmikroskopische Untersuchung präpariert.

Vor und nach den Versuchen wurde zur Durchführung der Routinediagnostik bei einigen Tieren durch Venenkatheter Blut entnommen und folgende Werte bestimmt: Glucose, Hämoglobin, Cholesterin, Triglyceride, Bilirubin ges. Harnstoff-N., Kreatinin, Na, K, Ca, GOT, GPT, alk. Phosphatase, Leukozyten und Erythrozyten.

Die entsprechenden Werte wurden durch den Autoanalyser (Sma^R Plus, Technicon Instruments, Tarrytown, USA) des Kliniklabors nach den Vorschriften der Firma (Glucose nach der GOD-Perid^R Methode) bestimmt.

4. EKG

Vor und nach den zwei Beatmungsversuchen mit 200 ppm CO-Luft wurden in Narkose mit Nadelelektroden ein EKG abgenommen. Verwendet wurde dabei ein Einfachschreiber (Hellige). Es wurden modifizierte Extremitäten- und Brustwandableitungen gewählt.

5. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Die Untersuchungen wurden mit einem Rasterelektronenmikroskop vom Typ Stereoscan Mark II durchgeführt, das nach folgendem Prinzip arbeitet:

Ein von 3 elektromagnetischen Linsen auf etwa 100 bis 200 Å gebündelter Elektronenstrahl wird von elektrisch gesteuerten Ablenkspulen in rascher Folge in 1000 Zeilen über einen quadratischen Flächenabschnitt des Objektes geführt. Die auf die Präparatoberfläche auftreffenden Elektronen des Primärstrahls werden teils absorbiert, teils reflektiert.

Entscheidend für den Bildaufbau im Raster-Elektronenmikroskop sind jedoch nicht die reflektierenden Elektronen, sondern die unter der Wirkung des Primärstrahls entstehenden energiearmen Sekundärelektronen, von denen eine Anzahl von einem Fänger aufgenommen und einem Szintillator zugeführt wird.

Zwischen dem Probenteller und dem Gitter des Fängers liegt eine regelbare Spannung von -30 bis + 200 V, zwischen Gitter und Szintillator von 12 kV. Die Intensität der vom Szintillator weitergeleiteten Signale ist der Anzahl aufgenommener Sekundärelektronen proportional. Diese Signale dienen dann zur Steuerung der Helligkeit des Bildpunktes einer Kathodenstrahlröhre, der mit dem

Rastervorgang des Primärstrahls synchronisiert ist und das Bild Zeile für Zeile aufbaut. In der Praxis stehen 2 Röhren zur Verfügung, eine mit lang nachleuchtendem Schirm zur visuellen Beobachtung, und eine zweite zur fotografischen Aufnahme des Bildes.

Die Ausbeute an Sekundärelektronen ist im wesentlichen von 3 Faktoren abhängig:

1. vom Winkel zwischen Primärstrahl und Probe. Trifft der Primärstrahl senkrecht auf die Probe, so ist die Zahl der auf den Elektronenfänger gelangenden Sekundärelektronen sehr gering. Eine gute Ausbeute erzielt man dagegen, wenn der Primärstrahl unter einem spitzen Winkel auf die Probe auftrifft.

Bei diesen Untersuchungen betrug der Winkel - 45° .

2. Die Anzahl der entstehenden Sekundärelektronen ist von der Leitfähigkeit der Objektoberfläche bestimmt. Von biologischen Objekten sind deshalb nur gute Abbildungen zu erhalten, wenn deren Oberfläche mit einer entsprechenden Schicht versehen ist. Bewährt hat sich die Bedampfung mit Gold bzw. mit Kohle und Gold.
3. Die Sekundärelektronenstrahlung wird weiterhin durch das Relief der Präparatoberfläche beeinflusst. Jedes Hindernis zwischen dem anregenden Elektronenstrahl und dem Fänger verringert die Anzahl der Sekundärelektro-

nen, die auf den Fänger gelangen, und gibt dadurch jedem Bildpunkt seine individuelle Intensität.

Die Vergrößerung, die stufenweise zwischen 20 : 1 und 100 000 : 1 in günstigen Fällen noch höher - variiert werden kann, wird durch eine Verminderung der Spannung in den Ablenkspulen erreicht. Dabei tastet der Primärstrahl ein immer kleiner werdendes Feld ab.

6. Probenentnahme

Das gewünschte Gefäßsegment wurde im Abstand von etwa 2 - 5 cm unterbunden. Dann wurde ein Stück einer Korkplatte unter die zu entnehmende Arterie geschoben und diese mit Stecknadeln fixiert, um sie in seiner ursprünglichen Länge zu erhalten.

Dann wurde die Arterie der Länge nach vorsichtig aufgeschnitten und wieder mit Hilfe von Nadeln aufgespannt. Vorsichtige Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung entfernte dann alle nicht adhärenenten Blutbestandteile.

Die Fixierung und Entwässerung des Präparates erfolgte durch folgendes Vorgehen: 30 Min. in auf pH 7,2 gepufferter Glutaraldehyd-Lösung bei 4⁰ C, dann zweimal je 30 Min. in 30 %igem Alkohol, anschließend 12 bis 17 Stunden in 70 %igem Alkohol, dann 30 Min. in 90 %igem Alkohol und zuletzt weitere 30 Min. in absolutem Alkohol.

Um einen möglichst schonenden Übergang in den Bereich des für die Bedampfung und Untersuchung notwendigen Hochvakuums zu gewährleisten, wurden die Präparate im Anschluß an diese Vorbehandlung unter schwachem Vakuum getrocknet. Das fixierte Präparat konnte jetzt von der Korkplatte auf den Spezialobjekttträger übertragen und

dort mit Klebestoff befestigt werden, mit einer Gold- bzw. Kohle-Goldschicht bedampft werden und in das Rasterelektronenmikroskop eingebracht werden.

Abweichend von diesem Verfahren wurden bei einigen Präparationen eine in vivo-Fixierung angewandt. Dabei wurde eine Glutaraldehyd-Puffer-Lösung retrograd unter arteriellem Druck injiziert. Dann wurde das zur Entnahme vorgesehene Segment unterbunden und 30 Min. später analog herausgetrennt.

II. Versuchsdurchführung

1. Vorversuch:

Kontrollversuch mit Preßluft: In einem Kontrollversuch wurde einem Schwein in beschriebener Weise ein Stück der A. carotis entnommen. 3 Tage später wurde das Tier an 3 aufeinanderfolgenden Tagen für jeweils 2 Stunden in den Versuchskasten gesetzt. Dieser wurde mit technischer Preßluft durchströmt. Die Flußrate betrug während der ersten 10 Min. zur Durchspülung des Systems 30 l/min und wurde dann für die restliche Versuchszeit auf 5 l/min eingestellt. Dabei interessierten vor allem die CO₂-Meßdaten, um einen eventuellen CO₂-Stau berücksichtigen zu können.

Die CO-Meßergebnisse waren in allen Fällen im Rahmen des Nachweisbaren negativ.

Nach Beendigung des Versuchs wurden dem Tier Arterien zur Untersuchung entnommen. Das Vorgehen und die Probenentnahme erfolgte wie unter "Operationstechnik" beschrieben.

2. Hauptversuch mit CO-Luft-Gemisch

Zur Untersuchung der Abhängigkeit zwischen etwaigen Veränderungen in den Blutgefäßen und der Dauer der Einwirkung des CO-Luftgemisches wurden die Versuchstiere dem Gasgemisch unterschiedlich oft bzw. lange ausgesetzt. Und zwar so, daß das Untersuchungsmaterial von Tieren gewonnen werden konnte, die jeweils an einanderfolgenden Tagen einmal, zweimal, viermal und achtmal den Versuchsbedingungen unterworfen wurden (Tab. 1). Dabei wurden CO-Luft-Gemische mit 150 und 200 ppm CO-Anteil verwendet. Entsprechend dem Kontrollversuch wurde zunächst während 30 Min. mit einer hohen Durchflußrate von mindestens 12 l /min das System durchspült. Dann wurde der Durchfluß auf 6 l /min eingestellt. Die Dauer des Versuchs lag bei täglich 4 Stunden. Auch hierbei konnte der CO₂-Stau unberücksichtigt bleiben, da die Werte nie über 3 Vol % anstiegen.

Vor Entnahme der ersten Gefäßproben wurden die Schweine 3 - 4 Tage an die Versuchsbedingungen gewöhnt, um unnötige Streßsituationen zu vermeiden.

Tabelle 1

Gesamtüberblick der bei unterschiedlichen CO-Konzentrationen und Zeiten eingesetzten Versuchstiere

CO-Gehalt ppm	Ver- suchs- dauer	1	2	4	8	Tage à 4 Stunden
150		2	2	1	1	
200			1	1		

D Ergebnisse

Die bei einigen Tieren vor und nach dem Begasungsversuch durchgeführte Routinediagnostik erbrachte keine signifikanten Veränderungen der normalen Blutwerte. Besonders die in diesem Zusammenhang interessierenden Blutfette, Cholesterin bzw. Triglyzeride blieben bei Durchschnittswerten von 105 bzw. 56 unauffällig.

Bei Zugrundeliegen eines mittleren Hämoglobingehaltes von 12 g% ergab sich ein durchschnittlicher CO-Hb Gehalt von 5 - 8 % bei 150 ppm CO-Luft Gemisch.

Für die CO₂-und CO-Konzentrationen im Versuchskasten wird auf Tabelle 2 und Abbildung 1 verwiesen.

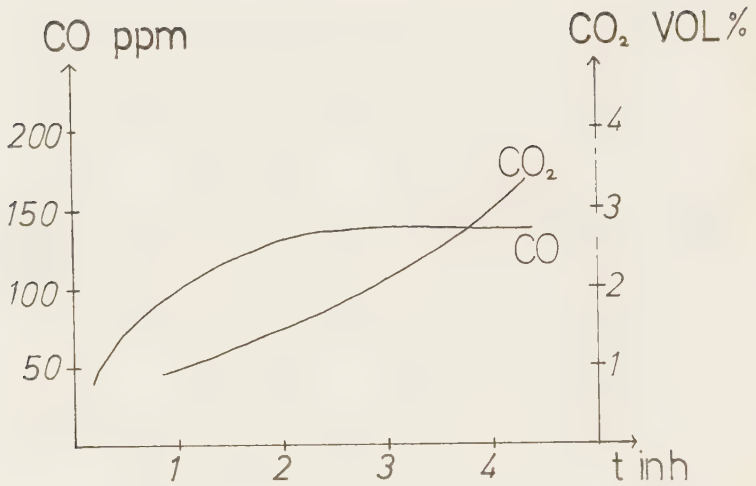


Abbildung 1

Verlaufskurve der CO- und CO₂-Konzentration im Rauchkasten.

Std.	ppm CO		Vol % CO ₂	
	Min.	Max.	Min.	Max.
1	90	110	1	1,5
2	115	140	1,5	2
3	120	140	2	2,5
4	120	140	2,5	3,1

Tab. 2: CO- und CO₂-Gehalt im Versuchskasten

Die Messungen der Viskosität des Vollblutes erbrachten niedrigere Werte nach den CO-Beatmungen im Gegensatz zu vorhergehenden Versuchen mit Zigarettenrauch (Tab. 3).

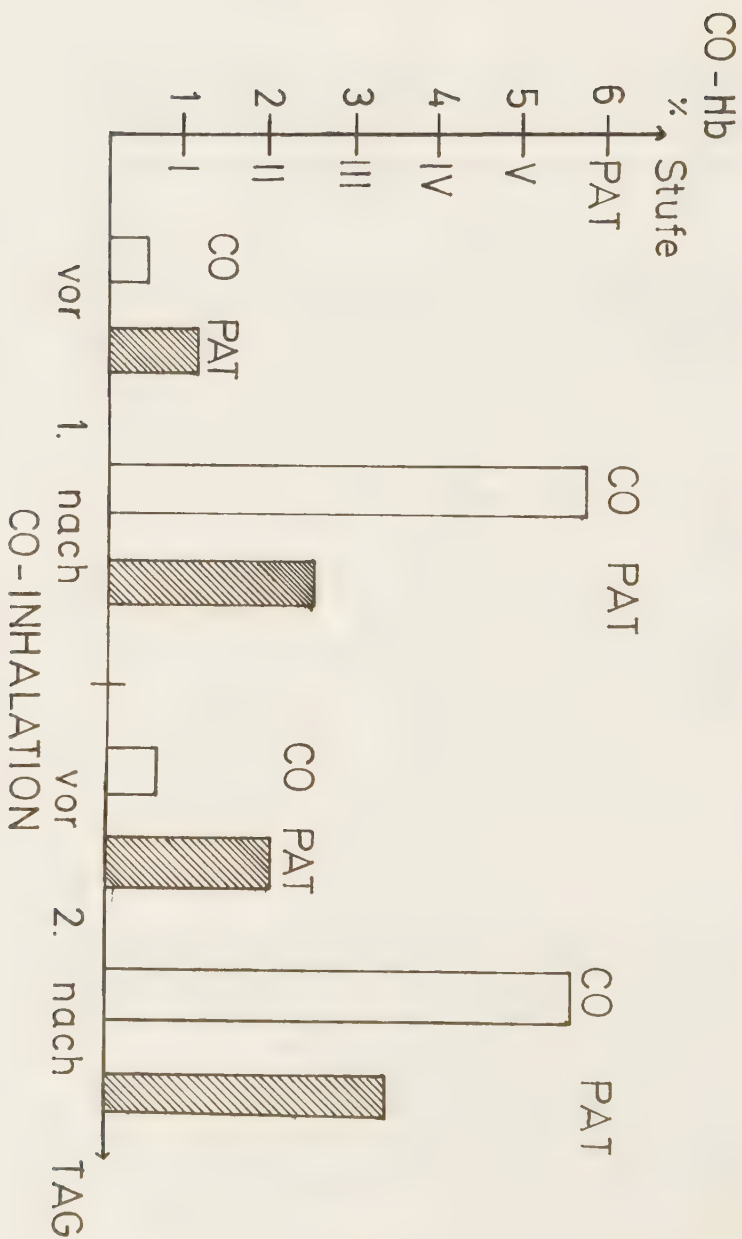
Tabelle 3

Viskositätsbestimmung vor und nach den 4-stündigen CO-Beatmungen

vor	nach	Diff.
4,45	4,34	+
4,52	3,79	+
4,1	3,54	+
2,94	3,15	-
4,14	3,79	+
3,5	3,64	-
$\bar{x} = 3,96$	$\bar{x} = 3,71$	

Der Plättchenagglutinationstest (PAT nach Breddin I) war jeweils nach Versuchsende erhöht, im Mittel von 1,4 auf 2,9, Beurteilung nach eigener Modifikation; ($n = 6$; $p = 0,0025$, t-Test nach Student mit Einzelpaarvergleich). Dieser Anstieg war bereits nach einer einmaligen Exposition zu beobachten und - soweit bei der kleinen Versuchs-

Tabelle 4



zahl zu beurteilen - unabhängig von der verwendeten CO-Konzentration (Tab. 4).

Die bei 2 Tieren nach Exposition an 200 ppm CO-Luft Gemisch durchgeführten EKG-Untersuchungen zeigten folgendes Bild: Der QRS-Vektor, der sich im Ruhe-EKG (1 a), bei -90° bis -120° befindet, kann bei dem EKG (1 b) nach der CO Exposition nicht mit Sicherheit bestimmt werden, wahrscheinlich $+90^{\circ}$, T-alpha $+90^{\circ}$.

Beim EKG (1 a) negatives T in aVR, II aVF, während beim EKG (1 b) hohe T-Wellen und eine wesentliche Q-Verlängerung zu beobachten ist. Bei den Brustwandableitungen ist P in "V₃" gedoppelt, auch ist die T-Welle verdoppelt, jedoch nicht verlängert.

EKG (2 a) und (2 b): Es zeigt sich ein überdrehter Linkstyp und geringe QRS-Ausschläge, die T-Wellen kleiner als die P-Wellen. Beim Zustand nach dem Versuch (2 b) ist der T-Vektor, der vorher -120° war, jetzt $+60^{\circ}$. Die P-Wellen sind höher als im Vor-EKG, die QT-Zeit ist auf 0,52 wesentlich verlängert. Eine Doppelung der T-Welle wurde andeutungsweise in "V₃" gesehen. Bei beiden Versuchen wurde beobachtet, daß die QT-Zeit wesentlich verlängert ist, von 0,36 auf 0,52, bzw. von 0,46 auf 0,54 sec., außerdem sind die T-Wellen nach dem Versuch positiv geworden, während sie vorher negativ waren.

Befund am nichtvorbehandelten Gefäß:

Das normale, nicht gereizte Gefäß zeigt bei sorgfältiger Präparation im Rasterelektronenmikroskop niemals adhären- te Bestandteile des strömenden Blutes. Auch faserige Ele- mente, dem Fibrin entsprechend, sind nicht zu sehen. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen das typische Bild der Innen- fläche der A. femoralis eines unvorbehandelten Miniatur- schweines.

Die Gefäßpartien, die während des Fixations- und Trock- nungsprozesses zwischen 2 Stecknadeln lagen, haben die Weite behalten, die sie bei der Entnahme des Gefäßes hat- ten.

Der in den Abbildungen 2 und 3 dominierende Eindruck eines Längsfaltenverlaufs dürfte dem gezackten Verlauf der Tunica elastica interna, wie es ähnlich auch im Lichtmikroskop zu sehen ist, gleichkommen.

In beiden Abbildungen sind die Endothelzellkerne deutlich sichtbar. Es handelt sich um die in Längsrichtung orien- tierten, teils ovalen, teils spindelförmigen Erhabenhei- ten mit einer Länge von ungefähr 16 u und einer Breite von 3 - 5 u (zum Vergleich: Größe der Plättchen 1 - 3 u). Eine klare Begrenzung des Zelleibs ist nicht immer zu erkennen.

Auf den Bildern sichtbare Stellen mit Faserstruktur können in Einzelfällen Fibrinniederschläge nicht sicher ausgeschlossen werden. Von den Thrombozyten gehen oft sehr lange, fadenförmige Pseudopodien aus, die Fibrinfäden sehr ähnlich sehen können.

In Abb. 2 sieht man "geschwänzte" Endothelzellen losgelöst von ihrem Zellverband. Auf manchen normalen Endothelzellen sind kleine, körnige Auflagerungen mit einer Größe bis zu 0,3 μ sichtbar.

Befund an Gefäßen von Tieren die mit verschiedenen CO-Luft Gemischen behandelt wurden:

Wie bei den anderen Angiopathiemodellen (79, 87), die zu einer Ablagerung von Elementen des strömenden Blutes, d.h. zunächst zu Thrombozytenablagerungen führen, zeigen sich auf den Gefäßen nach Einwirken der Noxe Kohlenmonoxyd entsprechende Alterationen. In 5000-facher Vergrößerung zeigt Abb. 4 die A. femoralis eines Miniaturschweines nach Beatmung mit 150 ppm CO über 4 Stunden hinweg, bei dem sich auf mäßig faltigem Endothel in Bildmitte mehrere adhärente Thrombozyten in früher Metamorphose zeigen. Ganz oben in der Bildmitte möglicherweise ein weiterer pseudopodienbildender Thrombozyt. Abb. 5 zeigt dasselbe Gefäß in 10 000-facher Vergrößerung. Auf einer Endothelfalte zwei "gereizte" Thrombozy-



Abb. 4: Oberfläche der A. femoralis nach 4- stündiger Beatmung mit einem CO-Luft Gemisch von 150 ppm CO. Mehrere adhärenzte Einzelthrombozyten sichtbar. Vergrößerung 1: 5000



Abb. 5: A. femoralis nach 4-stünd. Beatmung mit 150 ppm Co. Es sind gereizte Thrombozyten mit Pseudopodien zu erkennen; weiterhin faserige Strukturen. Vergrößerung 1: 10 000



Abb. 2: A. femoralis eines Miniaturschweines nach 4-stündiger Beatmung mit Preßluft. Die geschwänzten Zellen auf der Oberfläche sind Endothelkerne. Ein Längsfaltenrelief ist zu erkennen. Vergrößerung 1: 1 000.



Abb.3: A. femoralis nach 4-stündiger Preßluftbeatmung. Viele Endothelzellen sind zu sehen. Vergrößerung 1: 2000

ten mit sternförmig ausgehenden Pseudopodien. Bei den die Endotheloberfläche bedeckenden Strukturen könnte es sich um fibrinartige Ablagerungen handeln. Auch beim Zerfall von Thrombozyten bei der Blutgerinnung entstehen in der Umgebung des Granulomers erste Fibrinfäden, die zum Thrombus führen.

Die Abb. 6 zeigt die A. interventricularis cordis nach 2-tägiger Beatmung mit 150 ppm CO-Luft Gemisch in 10 000-facher Vergrößerung. Im rechten oberen Quadranten sind verklumpende Thrombozyten anzunehmen. Über das übrige Bild verteilt mehrere lange Pseudopodien und links oben einige kugelige Thrombozyten.

Auf der Abb. 7 ist ein Ausschnitt einer A. femoralis nach 2-tägiger Exposition an 150 ppm CO in 5000-facher Vergrößerung zu sehen. Auch auf diesem Bild sind Thrombozytenanhäufungen sichtbar, die beginnen einen Belag auf dem Endothel zu bilden. An einigen Stellen ragen Ausläufer von Endothelzellen in das Bild hinein.

Die Abb. 8 und 9 zeigen die A. femoralis nach einer in vivo-Fixierung mit Gluteraldehyd. Die Tiere waren zuvor mit einem 200 ppm CO-Luft Gemisch 8 Tage lang begast worden. In überraschender Deutlichkeit und Anzahl sieht man beide Bildflächen bedeckend, gereizte Thrombozyten mit teilweise lang auslaufenden Pseudopodien. Besonders bei

Abb. 9 in 5000-facher Vergrößerung sind im Gegensatz zu den vorherigen Bildern keine Erythrozyten sichtbar. Inwieweit diese beiden Darstellungen fixierungsbedingt sind, muß durch weitere Untersuchungen an "Normaltieren" abgeklärt werden.



Abb. 6: Innenfläche einer A. interventricularis cordis nach 2-tägiger Beatmung mit einem CO-Luft Gemisch von 150 ppm verklumpende Thrombozyten. Rasterelektronenmikroskopische Vergrößerung 1: 10 000.



Abb. 7: Oberfläche der A. femoralis nach 2-tägiger Exposition an 150 ppm CO-Luft Gemisch. In Bildmitte unten und oben verklumpende Thrombozyten. Seitlich sind Ausläufer von Endothelzellen sichtbar. R-Vergrößerung: 1: 5 000.



Abb. 8: Oberfläche einer A. femoralis nach 8-tägiger Beatmung mit 200 ppm CO-Luft Gemisch. Die Fixierung erfolgte in vivo mit Glutaraldehyd; dabei sind keine Erythrozyten zu sehen, dafür aber sehr viele agglutinierende Thrombozyten. Rasterelektronenmikroskopische Vergrößerung 1: 2 000.



Abb.9: Dasselbe Gefäß an stärkerer Vergrößerung. Deutlich sind die Pseudopodien der Thrombozyten zu erkennen. Es bleibt offen, inwieweit diese Veränderungen fixierungsbedingt sind. R-Vergrößerung 1: 5 000.

E Diskussion

Das eindrucksvollste Ergebnis dieser Experimente ist der Nachweis von Thrombozytenadhäsionen auf dem anscheinend intakten Arterienendothel unter dem Einwirken von CO als Bestandteil des "Risikofaktors" Rauchen.

Bei früheren Untersuchungen konnten von unserer Arbeitsgruppe gleichartige Thrombozytenadhäsionen besonders ausgeprägt bei cholesterinreich gefütterten Kaninchen und Miniaturschweinen sowie bei lokaler Reizung der Arterienwand von außen mit Eis ("Kälteangiitis") oder mit einem Adrenalin getränkten Wattebausch nachgewiesen werden (41).

Bei Kaninchen konnten unter andauernder cholesterinreicher Fütterung auf die Weiterentwicklung dieser Thrombozytenadhäsionen innerhalb von 3 Wochen zu Mikroparietalthromben mit Fibrindeposition und Einschlüssen von Erythrozyten hingewiesen werden, wie sie sich ganz ähnlich auf der Innenfläche von atherosklerotisch veränderten Arterien des Menschen finden (41).

Andererseits konnte auch gezeigt werden, daß diese Thrombozytenadhäsionen nach Aufhören der Reizwirkung völlig in den Endothelverband integriert werden können (41), was nicht verwundert, wenn man bedenkt, daß die Reparatur von Endotheldefekten zur physiologischen Aufgabe der Thrombozyten gehört (73). Auf die spezielle Bedeutung

der Thrombozyten in der Pathogenese der arteriellen Verschlußkrankheit wiesen bereits 1962 Murphy und Mustard hin (61). Aber erst das Rasterelektronenmikroskop erlaubt das systematische Absuchen von Oberflächen und damit den Nachweis der Adhärenz von einzelnen Thrombozyten auf der Innenfläche von Arterien, die im histologischen Schnitt noch keine Veränderung aufweisen müssen. Mit dieser Methode konnte gut reproduzierbar nach Einwirkung von CO und anderen "Risikofaktoren" Thrombozyten auf dem Endothel adhärent gefunden werden. Es liegt nahe, daß in einer gestörten Interaktion zwischen Blutplättchen und Arterienendothel der entscheidende Startmechanismus der Atherosklerose zu suchen ist ("Plusvariante der Thrombozytenpathologie") (41).

Ob die Schädigung primär am Thrombozyten oder am Endothel oder an beiden gleichzeitig angreift, kann mit dieser Untersuchung noch nicht gesagt werden. Doch beweisen diese Experimente, daß CO-Inhalation auf jeden Fall frühzeitig die Thrombozytenfunktion beeinflußt, indem der Thrombozyt in seine Reizform übergeführt, klebrig wird und an der Gefäßwand anhaftet (40). Damit könnte der Thrombozyt Wegbereiter der Atherosklerose sein.

Ein weiteres bedeutsames Ergebnis in Verbindung mit der "Plättchentheorie" ist die Erhöhung des PAT. Frühere Untersuchungen zeigten, daß auch unter cholesterinrei-

cher Fütterung bei Kaninchen die Plättchenaggregationsneigung ansteigt (66).

Auch bei Menschen mit obliterierender peripherer Angiopathie, mit kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen, Vaskulitiden, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie u.a. und bei Rauchern wurde eine gesteigerte Plättchenadhäsions- bzw. -aggregationsbereitschaft gefunden (61, 3, 20). Die Plättchenaggregationsneigung ist alters- und geschlechtsabhängig (bei Männern im mittleren Alter deutlich stärker als bei Frauen). Bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie Typ II und IV mit koronarer Herzkrankheit ist die Thrombozytenüberlebenszeit verkürzt. Nach fettreichen Mahlzeiten findet sich eine Korrelation zwischen Plasma- und Thrombozytriglyceriden (85). Der Aufbau der Phospholipide in Thrombozyten und Thrombozytenfaktor 3 kann diätetisch beeinflußt werden (69, 39); besonders die gesättigte Stearinsäure steigert die Thrombozytenaggregationsneigung. Patienten mit koronarer Herzkrankheit zeigen einen besonders hohen Anteil an Stearin- und Öleinsäure in den Plättchenphospholipiden. Polyensäurereiche Diät vermindert die Thrombozytenaggregationsneigung (85).

Außerdem ist die Plättchenaggregations- bzw. adhäsionsneigung unter erhöhten Schwerkraften (bzw. bei hoher Strömungsgeschwindigkeit- wie im arteriellen System) ge-

steigert (50).

An Schweinen konnte gezeigt werden, daß ADP-Plättchenaggregate in der Myokardzirkulation vorübergehende Ischämie, kleine Infarkte und tödliche Arrhythmien bewirken (45).

Weitere Untersuchungen mit unterschiedlichen CO-Konzentrationen und einer größeren Tierzahl könnte gerade im Zusammenhang mit dem Plättchenagglutinationstest von großem Interesse sein.

All diese Befunde belegen eine enge Beziehung zwischen Blutplättchen und obliterierenden Angiopathien. Der Risikofaktor - z.B. das Kohlenmonoxyd, in Verbindung mit dem Rauchen, - vermag offenbar direkt oder indirekt (über das Endothel) den Thrombozyten in seine Reizform überzuführen, in der er aggregations- und adhäsionsbereit ist und sogar am anscheinend intakten Arterienendothel anhaften kann - begünstigt durch hohe Scherkräfte. Die Adhäsion führt zu einer Freisetzungsreaktion ("release reaction") mit aktiver Entspeicherung von Thrombozytenspeicherorganellen ("dense bodies", Lysosomen) mit Freisetzung einer Vielzahl von Substanzen (u.a. ADP, Serotonin, Histamin, Adrenalin, Fibrinogen, Ca^{++} , Plättchenfaktor 3), von denen manche (z.B. ein "permeability factor" (64) die Endothelpermeabilität für atherogene Fette erhöhen (63). Zusätzlich kommt es zur Freisetzung

von Lipoproteinlipase aus Endothelzellen am Ort der Thrombozytenadhäsion, und neuere Untersuchungen ergaben, daß die Thrombozyten einen Faktor freisetzen, der zur Proliferation von glatten Muskelzellen führt (74, 81). Die Einwanderung von glatten Muskelzellen der Media mit Proliferation in der Intima ist auf Grund histologischer Untersuchungen als frühe Läsion der Atherosklerose nachgewiesen (38).

Inwieweit die EKG-Befunde in Beziehung zu dem erreichten Carboxyhämoglobinspiegel gebracht werden können, läßt sich vorläufig nicht mit Sicherheit darlegen. Offensichtlich handelt es sich um eine Erregungsleitungsstörung (die z.B. mit Störungen des Mineralhaushalts in Zusammenhang stehen könnte). Dies könnte bei einer leichten CO-Intoxikation, die in diesem Falle anzunehmen ist, nur als sekundäre Folge aufgefaßt werden.

Die Frage bleibt offen, ob eine Myokardschädigung auch diesen Effekt machen kann.

Gesonderte EKG-Untersuchungen über die Auswirkungen von geringen CO-Konzentrationen beim Minischwein könnten einen weiteren Beitrag zur Diskussion des "Passivrauchens" bringen.

Diese Untersuchungen zeigen, daß auch der "Risikofaktor"

Kohlenmonoxyd diese initialen Mechanismen der Atherosklerose auszulösen vermag. Demnach scheint das Kohlenmonoxyd einer der entscheidenden Faktoren für die Angiopathieauslösung zu sein. Es ist anzunehmen, daß seine Wirkung prinzipiell auf einer erheblichen Störung der Oxydationsabläufe im Organismus beruht (53). Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten herauszufinden, inwieweit die unterschiedliche Beeinflussung der Blutviskosität durch CO und Zigarettenrauch auf zusätzliche Faktoren im Zigarettenrauch (Nikotin bewirkt möglicherweise eine Katecholaminfreisetzung), die im Zusammenhang mit einer obliterierenden Angiopathie pathophysiologisch durchaus von Bedeutung sein könnte.

F Zusammenfassung

Während einer 1 - 8-tägigen Versuchsdauer wurden 8 Miniaturschweine einem CO-Luft Gemisch mit 150 - 200 ppm CO ausgesetzt. Carboxyhämoglobinspiegel erreichten Werte von 5 - 8 %. Diese Werte sind vergleichbar jenen eines mittleren Zigarettenrauchers. Einander entsprechende Gefäßproben wurden zur rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung von 2 Tieren nach einmaliger CO-Exposition, nach 2-tägiger von 3, nach 4-tägiger von 2 und nach 8-tägiger Dauer von 1 Schwein unmittelbar nach Versuchsende entnommen. Auf dem Endothel aller untersuchten Blutgefäße konnten nach CO-Exposition Plättchenadhäsionen nachgewiesen werden.

Vor und nach 4-stündiger Versuchsdauer wurde die Viskosität von Plasma und Blut, die Plättchenagglutination mit dem PAT-Test, die Blutfette und das Cholesterin bestimmt. Außerdem wurde bei 2 Tieren ein EKG abgenommen, dessen Auswertung keine signifikante Veränderung zeigte. Die Viskosität war leicht verringert. Die Plättchenagglutination war durchschnittlich um 1,5 Stufen erhöht.

Aus den experimentellen Daten läßt sich der Hinweis entnehmen, daß das im Tabakrauch enthaltene CO einer der auslösenden Faktoren für die Thrombozytenagglutination, die als Vorstufe der Atherosklerose diskutiert wird, sein könnte.

Summary

During a period lasting 1 to 8 days, eight minipigs were exposed to a gas mixture containing 150 - 200 ppm CO. All animals showed carboxyhemoglobin blood-levels ranging from 5 to 8 %. These values are comparable to average carboxyhemoglobin blood-levels observed in cigarette smokers with inhaling habits. The samples of reference blood vessels were taken for scanning electron-microscopy immediately after the first day of CO-exposure, from 2 animals, after two days inhalation from 3 animals, after 4 days from 2 animals and from 1 animal after eight days. In all examined reference blood vessels platelet-adhesions could be demonstrated after CO-exposition. Before and after four hours of duration after experiments we determined the viscosity of plasma and blood, the aggregation of platelets by PAT-Test and the lipids and serum-cholesterol. Additional ECG control, performed in two animals, did not show any significant alteration. Viscosity of blood was slightly diminished. The aggregation of platelets increased at an average of 1,5 steps. From the experimental datas it can be concluded that carbon monoxide occurring in tobacco smoke might be one of the causal factors for platelet aggregation, being discussed as the first step to atherosclerosis.

G Literatur

- 1 Adams, C.W.M.:
Tissue changes and lipid entry in developing atheroma.
Ciba Foundation Symposium 12, Elsevier Excerpta Medica,
North Holland, Amsterdam, 1973
- 2 Anderson, W.H.:
Acute exposure to cigarettes smoke as a cause of hypoxia.
Chest (Suppl.) 59, 33 - 38, 1971
- 3 Ashby, P., Dalby, A.M., Millar, J.H.B.:
Smoking and platelet stickiness.
Lancet 2, 158, 1965
- 4 Asmusen, E. and Knudsen, E.O.E.:
Studies in acute but moderate carbon monoxide poisoning.
Acta Physiol. Scand., 6, 67 - 78, 1943
- 5 Astrup, P.:
Carbon monoxide and peripheral arterial disease.
Scand.J.Clin.Lab.Invest.Suppl. 93, 193 - 197, 1967
- 6 Astrup, P., Kjeldsen, K.:
Carbon monoxide, smoking and atherosclerosis.
The Medical Clinics of North America Vol. 58, 2, 323 -
350, 1974
- 7 Astrup, P., Kjeldsen, K., Wanstrup, J.:
Effects of carbon monoxide exposure on the arterial
walls. Ann.N.Y.Acad.Sci. 174, 294 - 300, 1970
- 8 Astrup, P., Kjeldsen, K., and Wanstrup, J.:
Enhancing influence of carbon monoxide on the develop-

- ment of atheromatosis in cholesterol-fed rabbits.
J.Atheroscler.Res., 7, 343 - 354, 1967
- 9 Astrup, P., Trolle, D., Olsen, H.M., Kjeldsen, Knud:
Effect of moderate carbon monoxide exposure on fetal
development.
Lancet, 2, 1220 - 1222, 1972
- 10 Auerbach, O., Hammond, E.C. and Garfinkel, L.:
Smoking in relation to atherosclerose of the coronary
arteries.
New Engl.J.Med., 273, 775 - 779, 1965
- 11 Ayres, S.M., Gianelli, S. and Mueller, H.:
myocardial and systemic responses to carboxy-hämoglobin.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 174, 268 - 293, 1970
- 12 Ayres, S.M., Gianelly, St., Armstrong, R.G.:
Carboxyhämoglobin: hemodynamic and respiratory
responses to small concentrations.
Scienc, 149, 193 - 194, 1965
- 13 Beaumont, J.L.:
Risk factors and pathogenesis of atherosclerosis,
Triangle Vol. 14, 1, 9 - 16, 1975
- 14 Beard, F., Rodney, A., Wertheim, G.:
Behavioral impairment associated with small doses of
carbon monoxide.
Am. Journal of Publ. Health, 57, 9 - 12, 1967
- 15 Begglinger, R., Becker, M., Eggenberger, E. und
Lombard, C.:
Das Göttinger Miniaturschwein als Versuchstier.
Res.exp.Med. 165, 251 - 263, 1975

- 16 Bender, W., Göthert, M., Malorny, G., Sebbesse:
Wirkungsbild niedriger Kohlenoxyd Konzentrationen
beim Menschen.
Arch. Toxikol., 27, 142 - 158, 1971
- 17 Bijlenga, G., Dahme, E., Detweiler, D.K., Gresham, A.,
Howard, N., Kagan, B., Kaplan, M., Van Nie, J., Rubarth, S.,
Sternby, H., Stünzi, H., Uemura, K. and Whitney, C.:
Comparative studies of atherosclerosis in swine.
Bull.Wld.Hlth.Org. 36, 457 - 465, 1967
- 18 Biological effects of carbon monoxide.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 174, 1 - 430, 1970
- 19 Birnstingl, M., Hawkins, L. and McEwen, T.:
Experimental atherosclerosis during chronic exposure
to carbon monoxide.
Europ.J.Surg.Res., 2, 92 - 93, 1970
- 20 Breddin, K.:
Die Thrombozytenfunktion bei hämorrhagischen Diathe-
sen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten.
Stuttgart - New York: F.K. Schattauer 1968
- 21 Campbell, J.A.:
Tissue oxygen tension and carbon monoxide poisoning.
J.Physiol., 68, 82 - 96, 1929
- 22 Chalfen, E.Sch.:
Die thrombogene Theorie der Pathogenese der Artherosklerose.
Klin.Med. (Moskau), 9, 21 - 43, 1973
- 23 Coburn, R.F.:
The carbon monoxide body stores.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 174, 11 - 22, 1970

- 24 Coppée, G.:
Die Kohlenoxydvergiftung. In Schriftenreihe Arbeits-
hygiene und Arbeitsmedizin, S. 375, Luxemburg 1961
- 25 Dahme, E.:
Das Schwein, ein Versuchstier für die experimentelle
Atheroskleroseforschung.
Z.ges.exp.Med., 145, 305 - 311, 1968
- 26 Dahme, E., Kalich, J., Kaiser, E., Freytag, K., v.
Loringhoven und Stavrou, D.:
Studie zur Arteriosklerosegenese beim Hanford Minia-
turschwein unter normalen und experimentellen Bedin-
gungen.
Teil 1.
Atherosclerosis, 14, 153 - 168, 1971
- 27 Detweiler, D.K. und Luginbühl, H.:
Atherosclerosis in animals.
In: 16th Hahnemann Symposium on Atherosclerotic
Vascular Disease, New York, Appleton - Century-Crofts
1966
- 28 Doenecke, C., Lohmann, R. und Schulz, H.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Thrombozy-
ten des Menschen nach Einwirkung verschiedener Gase.
Thromb.Diath.Haemorrh., 16, 395 - 410, 1966
- 29 Duguid, J.B.:
Thrombosis as a factor in the pathogenesis of aortic
atherosclerosis.
J.Pathol. Bacteriol., 58, 207 - 212, 1946

- 30 Estabrock, R.W.:
Factors influencing the inhibitory effect of carbon
monoxide on cytochrome P 450.
Catalyzed mixed function oxidation reaction.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 174, 218 - 235, 1970
- 31 French, J.E.:
Atherogenesis and thrombosis.
Sem.Hemat, 8, 84 - 94, 1968
- 32 Friedrich, G.:
Schweine als Versuchstiere in der humanmed. Forschung.
Dsch.Ges.Wes., 23, 1143 - 1148, 1968
- 33 Frost, H.:
Modelle zum Studium der Pathogenese arterieller
Verschlußkrankheiten.
Habilitationsschrift München 1969
- 34 Ganong:
Medizinische Physiologie, 2. Aufl., Berlin - Heidel-
berg - New York, Springer 1972
- 35 Gottlieb, H. and Lalich, J.J.:
Occurence of atherosclerosis in the aorta of swine.
Amer.J.Pathol., 30, 851 - 855, 1954
- 36 Haldane, J.B.S.:
Respiration.
Yale Univ.Press., New Haven Conn. 1922
- 37 Haldane, J.B.S.:
The action of carbonic oxide on man.
J.Physiol.Scand., 22, 142 - 143, 1951

- 38 Haust, M.D., More, R.H., Movat, H.Z.:
The role of smooth muscle cells in the fibrogenesis
of atherosclerosis.
Amer.J.Path, 37, 377 - 389, 1960
- 39 Haust, M.D.:
Platelets, thrombosis and atherosclerosis.
in: Platelets, Drugs and Thrombosis, Symp., Hamilton
1972, S. 94 - 110, Basel: Karger 1975
- 40 Hess, H.:
Die Bedeutung der Blutplättchen für die Pathogenese
der arteriellen Verschlusskrankheiten.
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschg., 40, 115 - 121,
1975
- 41 Hess, H., Marshall, M. and Mallash, M.:
Eine einheitliche Theorie der Morphogenese aller
obliterierenden Angiopathien.
VASA, 3, 373 - 385, 1974
- 42 Hess, H., Schmidt-Schönbein, H.:
Film: Atherosklerose - anders gesehen.
Wiesbaden, Albert - Roussel, 1974
- 43 Hirvonen, L.L.:
Some physiological effects of smoking.
Kongreßbericht, 1. Europ.Kongr. "Rauchen und Gesund-
heit", Bad Homburg, 1971
- 44 Jørgensen, L., Hovig, T., Rowsell, H.C., Mustard, J.F.:
Adenosine diphosphate induced platelet aggregation
on vascular injury in swine and rabbits.
Amer.J.Path. 61, 161 - 170, 1970

- 45 Jørgensen, L., Rowsell, H.C., Hovig, T., Mustard, J.F.:
Resolution and organization of platelet-rich mural
thrombi in carotid arteries of swine.
Amer.J.Path., 51, 681 - 719, 1967

- 46 Kalich, J., Krumbacher, K., Ruf, B.:
Über die Erfahrung bei Zucht und Haltung, sowie eini-
ge physiologische Daten des Hanford-Miniaturschweines.
Z.ges.exp.Med., 145, 312 - 325, 1968

- 47 Kannel, W.B. und Gordon, T., Eds.:
The framingham study - An epidemiological investiga-
tion of cardiovascular disease.
US Department of Health, Washington D.C., 1970

- 48 Kannel, W.B., Dawber, T.R., Kagan, A., Revotskie, N.:
Factors of risk in the development of coronary heart
disease.
New Engl.J.Med., 266, 796 - 801, 1962

- 49 Kershbaum, A., Bellet, S., Finck, E.M.:
Effect of cigarette, cigar and pipe smoking on
nicotine excretion.
Arch.Intern.Med., 120, 311 - 314, 1967

- 50 Klose, H.J., Gosen, J.V., Ellinghaus, K., Schmid-
Schönbein, H.:
Coagulation of platelet-rich plasma and platelet
aggregation (P.A.) in viscometric flow.
Bibl.anat. (Basel), 11, 98, 1973

- 51 Kohlenmonoxyd-Entstehung, Messung und Wirkungskrite-
rien.
VDI Berichte Nr. 180, VDI Verlag, Düsseldorf, 1972

- 52 Lübs, Eide-Dittmar:
1. Deutscher Nichtraucherkongreß, Bad Neuenahr 1974
- 53 Lüderitz, P.:
Die nachweisbaren Wirkungen von Kohlenmonoxyd auf
den menschlichen Organismus.
Zeitschrift f. Hygiene u.i. Grenzgebiete, 18, 898 -
902, 1972
- 54 Luginbühl, H. and Jones, J.E.T.:
The morphology and morphogenesis of atherosclerosis
in aged swine.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 127, 763 - 779, 1962
- 55 Lydtin, H., Pieper, M., Kusus, T., Schnelle, K. und
Zöllner, N.:
Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena
portae, Vena cava, den rechten Vorhof und in den Ma-
gen des Miniaturschweines.
Z.ges.exp. Med., 149, 279 - 282, 1969
- 56 Marshall, M., Lydtin, H., Krawietz, W., Schuckert, G.,
Lohmüller, R., Zöllner, N.:
Erfahrungen mit einer neuen Anaesthesie am Miniatur-
schwein.
Zentralblatt Vet.Med.A., 19, 214 - 218, 1972
- 57 Marshall, M., Lydtin, H., Krawietz, W., Hagen, R.,
Schuckert, G., Hess, H. und Zöllner, N.:
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experi-
mentellen Medizin.
Res.exp.Med., 157, 300 - 316, 1972
- 58 Marshall, M., Schuckert, G., Sprandel, U. und Zöllner,
N.:

- Zirkadiane Schwankungen von Plasmaglukose und Insulin
beim jungen Miniaturschwein.
Zbl.Vet.Med.A., 20, 382 - 387, 1973
- 59 McFarland, R.A.: The Effects of exposure to small
quantities of carbon monoxide on vision.
Ann.Ny.Acad.Sci., 174, 301 - 312, 1970
- 60 Moreland, A.F., Clarkson, Th.B., Lofland, H.B.:
Atherosclerosis in Miniatur Swine.
A.M.A.Arch.Path., 76, 203 - 210, 1963
- 61 Murphy, E.A., Mustard, J.F.:
Coagulation tests and platelet economy in athero-
sclerotic and control subjects.
Circulation 25, 114 - 125 (1962)
- 62 Mustard, J.F., Packham, M.A.:
Factors influencing platelet function: adhesion,
release and aggregation.
Pharmacol. Rev., 22, 97 - 187, 1970
- 63 Mustard, J.F.:
Platelet aggregation, vascular injury and athero-
sclerosis.
Exp.Mol.Pathol., 7, 366 - 377 (1967)
- 64 Mustard, J.F., Movat, H.Z., Macmorine, D.R.L.,
Senyi, A.:
Release of permeability factors from the blood
platelet.
Proc.Soc.exp.Biol.Med., 119, 988 - 991 (1965)
- 65 Nicoll, P.A.:

- The action of inhaled cigarette smoke on the micro-circulation, heart rate and carotid pressure of bat. Angiology, 17, 851 - 890, 1966
- 66 Oversohl, K., Mallash, M. und Schmid-Schönbein, H.: Untersuchungen über die Bedeutung von Cholesterinbelastung auf die Thrombozytenfunktion. Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med., 80, 1449, 1974
- 67 Portheine, F.: Das sogenannte passive Rauchen. Kongreßbericht "Rauchen und Gesundheit", 1. Europ. Kongreß, Bad Homburg, 1971
- 68 Přeovská, I.: Der Einfluß der chronischen Einwirkung von Kohlenoxyd auf den klinischen Zustand und biochemische Veränderungen im Serum exponierter Personen in Hinsicht auf die vorzeitige Entwicklung der Atherosklerose. Int.Arch.Arbeitsmed., 28, 175 - 188, 1971
- 69 Renaud, S., Lecompte, F.: Hypercoagulability induced by hyperlipemia in rat, rabbit and man. Role of platelet factor 3. Circulat. Res. 27, 1003 - 1011 (1970)
- 70 Report of the Surgeon General: The health consequences of smoking. US Department of Health, Education and Welfare DHEW Publ. No. (HSM) 72 - 7516, 1972
- 71 Report of the Surgeon General: Smoking and health. PHS Publ. 1103 Govt.Print.Off.Washington D.C. 1964

- 72 Roberts, J.C. and Strauß, R.:
Comparative atherosclerosis.
New York, Hoeber (Harper) 1965
- 73 Róka, L.:
Physiologische Wechselwirkungen zwischen Gefäßinhalt
und Gefäßwand.
Dtsch.Med.J., 18, 349 - 355, 1967
- 74 Ross, R., Glomset, J.A.:
Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell.
Science, 180, 1332 - 1339, 1973
- 75 Russel, M.A.H., Wilson, C., Cole, P.V., Idle, M.,
and Feyerabend, C.: Comparison of increases in car-
boxyhaemoglobin after smoking "extra-Mild" and "non-
mild" cigarettes. The Lancet, 2, 687 - 690, 1973
- 76 Sayers, R.R., Yant, W.P., Levy, E. and Fulton, W.B.:
Effect of repeated daily exposure of several hours to
small amounts of automobile exhaust gas.
Publ.Health Bull.Nr. 186, 1937
- 77 Scharf, S.M., Thames, M.D. and Sargent, R.K.:
Transmural myocardial infarcting after exposure to
carbon monoxide in coronary artery disease.
N.Engl.J.Med., 291, 85 - 86, 1974
- 78 Scheidemantel, V. und Damm, S.:
Kohlenmonoxyd-Hämoglobin Konzentrationen bei der
Münchener Bevölkerung.
Münch.Med.Wo., 4, 109 - 112, 1973
- 79 Schiefelbein, H. (Hrsg.):
Nikotin, Pharmakologie und Toxikologie des Tabakrau-

ches.

Stuttgart, Georg Thieme, 1968

- 80 Schievelbein, H.:
Passives Rauchen.
Medical Tribune, 34, 6, 1975
- 81 Schotz, M.:
Schlüsselprozesse der Atherosklerose.
Selecta, 4, 254 - 263, 1975
- 82 Schröder, J.:
CO-Gehalt des Blutes bei Rauchern. In Nikotin, Pharmakologie und Toxikologie des Tabakrauches.
Stuttgart 278 ff., 1968
- 83 Schulte, I.H.:
The medical aspects of closed cabin atmosphere control.
Arch.Environm.Hlth. 7, 524 - 530, 1963
- 84 Sjöstrand, T.:
A preliminary report on the in vitro formation of carbon monoxide in blood.
Acta Physiol.Scand., 22, 142 - 143, 1951
- 85 Symposium:
Drugs affecting lipid metabolism.
Mailand, 9. - 12.9.74
- 86 Wald, N., Howard, S., Smith, P.G. and Kjeldsen, K.:
Association between atherosclerotic diseases and carboxyhaemoglobin levels in tobacco smokers.
Brit.Med.J., 1, 761 - 765, 1973

- 87 Warnstrup, J., Kjeldsen, K. and Astrup, P.:
Acceleration of spontaneous changes in rabbit aorta
by a prolonged moderate carbon monoxide exposure.
Acta Pathol.Microbiol.Scand., 75, 353 - 362, 1969
- 88 Webster, W.S., Clarkson, T.B. and Lofland, H.B.:
Carbon monoxide-aggravated atherosclerosis in the
squirrel monkey.
Exper.Molec.Path., 13, 36 - 50, 1970
- 89 Wells, R.E., Denton, R., Merrill, E.W.:
Measurement of viscosity of biologic fluids by cone
plate viscometer.
J.Lab.Clin.Med., 57, 646 - 656, 1961
- 90 Zorn, H., pers. Mitteilung.
Arbeitsmedizinisches Institut, Tübingen, 1975
- 91 Zorn, H.:
Die chronische Kohlenmonoxydvergiftung
Med.Klin. 70, 441 - 451, 1975
- 92 Zorn, H.:
Nachweis von Kohlenmonoxyd.
in Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Arbeitshygiene
12, 433 - 437, 1966

Lebenslauf

Am 9. Juli 1946 wurde ich als Sohn des Arztehepaars Heinz und Marianne Jander in Straßburg geboren.

Nach meiner Volksschulzeit in Chieming legte ich im Juli 1968 mein Abitur am mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium Ising ab.

Mit dem WiSem. 68/69 begann ich das Studium der Tiermedizin, das ich am 5. Sept. 1973 mit dem Staatsexamen abschließen konnte. Mit dem Beginn des folgenden Semesters begann ich das Medizinstudium, in dem ich im Sommer 74 das Physikum ablegte.

